

EFFECTO FITOTÓXICO DE IMIDAZOLINONAS SOBRE TRIGO SUSCEPTIBLE E IMI-TOLERANTE DURANTE IMPLANTACIÓN

Giménez, Juan Pablo¹; Yannicari, Marcos¹; Istilart, Carolina²; Giménez, Daniel¹

Resumen

Debido a su acción residual, la persistencia de imidazolinonas puede provocar fitotoxicidad en cultivos sembrados posteriormente a materiales imi-tolerantes. El objetivo del trabajo fue estudiar los efectos fitotóxicos de la residualidad de imazapir e imazamox sobre materiales de trigo de contrastante sensibilidad al herbicida. En función de esto, sobre un suelo libre de imidazolinonas se simuló la degradación del herbicida, aplicando las siguientes dosis: 0x, 1x, 1/4x, 1/10x y 1/20x (x= dosis recomendada) previo a la siembra. En el cultivar susceptible la emergencia de plántulas se inhibió a la dosis 1x, el crecimiento plumular fue afectado a 1x y 1/4x, la actividad meristemática del ápice disminuyó con 1x y 1/4x y la diferenciación de macollos aumentó a las dosis 1/4x, 1/10x y 1/20x. Sólo 1x provocó clorosis y disminución en el contenido de proteínas. En el cultivar resistente, a ninguna de las dosis se detectaron diferencias significativas respecto al testigo sobre los parámetros evaluados. Dosis residuales de imazapir e imazamox de hasta 5 % de la dosis recomendada impactarían en la implantación del cultivar susceptible de trigo, incrementando la tasa de diferenciación de macollos. En tanto, dosis residuales del 25 % de la dosis recomendada tendrían efectos fitotóxicos severos sobre el crecimiento del cultivar de trigo susceptible durante su implantación.

Introducción

En camino a una producción sustentable y potenciando el funcionamiento de los agroecosistemas, en la zona de la CEI Barrow se plantea la rotación de girasol con cereales de invierno. Esta secuencia presenta la ventaja de cortar ciclos de malezas, plagas y enfermedades, disminuir riesgos climáticos y de mercado, distribuir equilibradamente ingresos y egresos de la empresa. También, genera efectos inmediatos sobre el ciclo de los nutrientes y su disponibilidad para los cultivos que siguen en la secuencia. No obstante, los principales efectos se dan en el largo plazo y están asociados a la dinámica de la materia orgánica del suelo (Balesdent *et al.*, 2000; Galantini, 2002).

La adopción de girasoles imi-tolerantes ha permitido ampliar la variedad de herbicidas post-emergentes a emplear (Istilart, 2005a). En este sentido, esos materiales otorgan la posibilidad de aumentar las herramientas de control de malezas latifoliadas, sobre todo en sistemas trabajados bajo labranza cero (Miller y Al-Khatib, 2000).

Se ha encontrado que la aplicación de imidazolinonas en cultivos estivales tolerantes, puede provocar efectos fitotóxicos sobre el cultivo siguiente en la secuencia de rotación, debido a que algunos principios activos poseen prolongada persistencia en el suelo (Alister y Kogan, 2004). Al respecto, en el sur de la provincia de Buenos Aires los cultivares de trigo comúnmente empleados son susceptibles a las imidazolinonas utilizadas en el cultivo de girasol. Esto hace que la elevada persistencia de ciertos principios activos afecten la implantación del cereal de invierno (Istilart, 2005b).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de imidazolinonas sobre el crecimiento de un cultivar de trigo susceptible y otro imi-tolerante.

Materiales y métodos

En un ensayo en macetas, se probaron cinco concentraciones decrecientes de imazamox + imazapir (Clearsol plus®), simulando, de esta manera, la degradación del producto en el suelo. Los tratamientos fueron: 1x (x= dosis recomendada, 2 L.ha⁻¹), 1/4x, 1/10x, 1/20x y testigo (0x).

El ensayo se realizó en invernáculo, se emplearon macetas de 12 dm³, donde se sembró la mitad de la superficie con el cultivar de trigo "Klein Escorpión" susceptible al herbicida y la otra mitad con el cultivar Baguette 560 CL resistente a imazamox + imazapir. Se lograron 80 plantas de cada material sobre las que se evaluaron los parámetros descriptos a continuación.

- **Efecto sobre los días a emergencia:** Se realizaron observaciones periódicas a 7, 8, 9 y 10 días después de la siembra para determinar el número de plantas emergidas. Esto se llevó a cabo a partir de la visualización del coleoptile que rompe la capa superficial del suelo, contando como emergidas aquellas plántulas que superaron el centímetro por encima de la superficie.
- **Efectos sobre el crecimiento plumular:** Se evaluó el crecimiento del coleoptile y primera hoja (plúmula) a partir de mediciones de la altura de la plántula a 12, 14 y 18 días después de siembra.
- **Evaluación de la actividad del ápice a partir del seguimiento de diferenciación foliar:** Esta determinación se realizó a los 20, 30 y 45 días después de la siembra empleando una lupa binocular estereoscópica Leica, modelo Wild M3B. Además, se determinó el estado del ápice (vegetativo o

¹ Instituto de Fisiología Vegetal -INFIVE- Universidad Nacional de La Plata – CONICET

² Chacra Experimental Integrada Barrow (MAA – INTA)

reproductivo, *i. e.* doble lomo). Se emplearon como repeticiones tres plantas por cada tratamiento. Se estimó la actividad del ápice a partir de la diferencia en el número total de hojas diferenciadas entre los 20 y 30 días desde siembra y entre los 30 y 45 días.

- **Seguimiento de la evolución del número de macollos:** El número de macollos se determinó a 20, 30 y 40 días después de siembra siguiendo el mismo procedimiento e instrumental descripto anteriormente.
- **Contenido relativo de clorofila:** Fue evaluado el contenido relativo de clorofila empleando mediciones no destructivas con el instrumental portátil Minotal SPAD® 502 a los días 35 días después de la siembra, realizando lecturas sobre la última hoja expandida de 50 plantas por tratamiento.
- **Determinación del contenido de proteínas totales:** Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el contenido de proteínas de la última hoja expandida en ambos cultivares de trigo. Sobre cinco plantas por tratamiento, se tomó una muestra de 0,1 g de peso fresco y se la conservó a -20°C hasta el momento de realizar la determinación. Se siguió la metodología de Bradford (1976) y se empleó como patrón albúmina de suero bovino (0-15 µg).

Los parámetros evaluados se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) a fin de detectar diferencias significativas entre tratamientos. Se realizó la evaluación de los supuestos del ANOVA a partir del estudio de los residuales y, finalmente, se empleó el test de Fisher para efectuar la separación de medias por diferencias mínimas significativas ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

- **Efecto sobre los días a emergencia**

El imazapir + imazamox no alteró significativamente la emergencia del cultivar susceptible cuando se emplearon las dosis 1/4x, 1/10x, 1/20x. En cambio, el tratamiento 1x provocó una reducción de significancia estadística del 64 % en el número de plántulas emergidas con respecto al testigo a los 7 y 8 días desde la siembra (DDS). Luego de este tiempo, el número de plántulas emergidas no difirió significativamente respecto al testigo (Figura 1). En este sentido, el cultivar susceptible no mostró diferencias significativas en el porcentaje de emergencia entre los tratamientos con respecto al testigo luego de los 9 DDS (Figura 1). Se evidenció un retraso en la emergencia del tratamiento 1x que podría ser explicada por el efecto del herbicida sobre el crecimiento plumular como discuten Shaner y Singh (1993).

Al evaluar el porcentaje de emergencia del cultivar imi-tolerante, este no presentó diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del período de evaluación (Figura 1). Se detectó la insensibilidad de este material al efecto de imazapir + imazamox como variedad tolerante a estos principios activos.

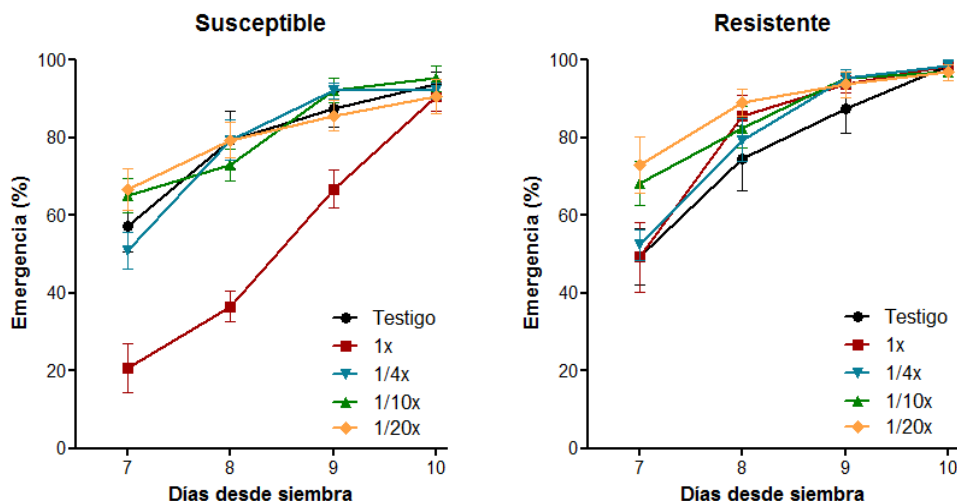


Figura 1: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre el porcentaje de emergencia del cultivar susceptible y resistente a 7, 8, 9 y 10 días de la siembra. Los símbolos representan los valores medios y las barras verticales ± 1 error estándar.

- **Efectos sobre el crecimiento plumular**

En consistencia a lo observado en la evaluación de la emergencia, el tratamiento 1x inhibió significativamente el crecimiento plumular del cultivar Escorpión con respecto a su testigo sin herbicida. A los 12 DDS, la dosis 1x provocó una inhibición del crecimiento del 60%, este efecto se mantuvo proporcionalmente a los 14 y 18 DDS. La dosis 1/4x afectó significativamente el crecimiento desde los 14 DDS, provocando una inhibición del 27 % respecto al testigo a los 18 DDS. Las restantes dosis de imazapir + imazamox, no afectaron significativamente el crecimiento (Figura 2). Se encontró que para caracterizar el efecto fitotóxico de este herbicida sobre trigo, la medición del crecimiento plumular es un parámetro más sensible que la evaluación del porcentaje de emergencia.

La inhibición del crecimiento podría ser explicada por la reducción en la tasa de división celular de las plantas provocada por el impacto del herbicida sobre la actividad metabólica celular (López *et al.*, 2005).

El cultivar resistente, no mostró diferencias significativas en la longitud del coleoptile + primera hoja a lo largo del período de evaluación con ninguna de las dosis probadas (Figura 2).

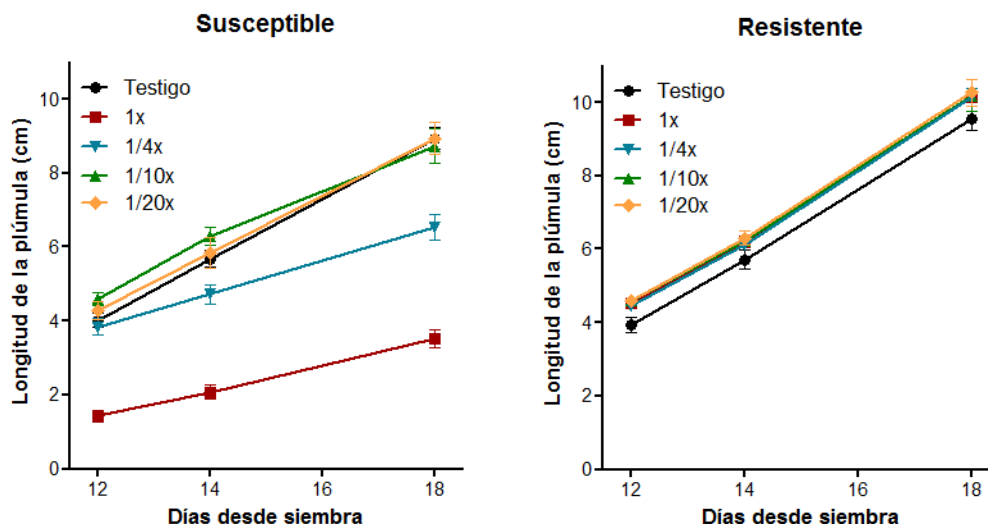


Figura 2: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre el crecimiento de la plúmula en el cultivar susceptible y resistente a 12, 14 y 18 días de la siembra. Los símbolos representan los valores medios y las barras verticales ± 1 error estándar.

- **Efectos sobre la evolución del número de macollos**

El cultivar Escorpión respondió a los efectos del imazapir + imazamox con un incremento en el número de macollos diferenciados por planta. Esto se detectó desde los 30 DDS para los tratamientos 1/4x, 1/10x y 1/20x. Esta tendencia se mantuvo a los 45 DDS, donde el efecto de la dosis 1x también mostró incrementos en el número de macollos diferenciados. El tratamiento 1/20x fue el que afectó en mayor magnitud la diferenciación de macollos provocando un aumento del 75% con respecto al testigo (Figura 3). Estos incrementos podrían ser consecuencia del efecto del herbicida como un inhibidor de la dominancia apical. Phillips (1975) concluye que en las gramíneas, las auxinas sintetizadas en la yema apical del tallo principal inhiben el desarrollo de los macollos y la eliminación de la fuente productora de auxinas por decapitación o por la aplicación de un inhibidor del transporte auxínico libera a las yemas laterales del control apical. En contraste, la diferenciación de macollos en el cultivar resistente no fue afectada significativamente por las diferentes dosis de herbicidas aplicadas (Figura 3), esta observación tiene concordancia con la insensibilidad de la enzima acetolactato sintasa al herbicida (Newhouse *et al.*, 1991).

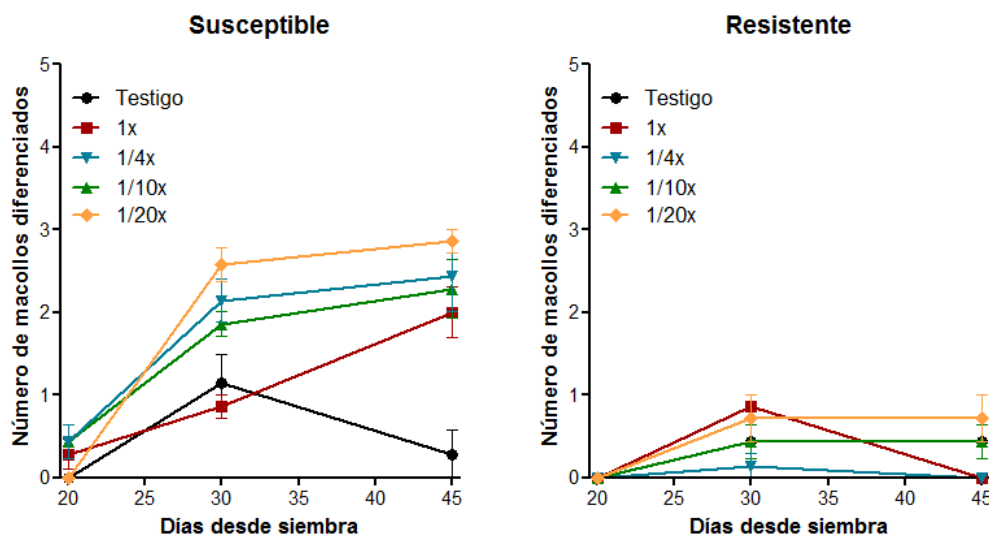


Figura 3: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre la diferenciación de macollos por planta en el cultivar susceptible y resistente a 20, 30, y 45 días de la siembra. Los símbolos representan los valores medios y las barras verticales ± 1 error estándar.

• *Efectos de la actividad del ápice a partir del seguimiento de la diferenciación foliar*

En el cultivar Escorpión, se observó que los tratamientos 1/4x y 1x presentaron una menor actividad respecto a su testigo y el retraso en el desarrollo del ápice. En plantas tratadas con la dosis 1x, el número de hojas diferenciadas se mantuvo constante desde los 20 días post-siembra hasta los 45 días. En este momento de evaluación, la reducción en la actividad meristemática del ápice fue de 36 %. El tratamiento 1/4x provocó una respuesta intermedia entre la dosis 1x y el testigo inhibiendo en un 25 % la actividad meristemática del ápice a los 45 días desde la siembra (Figura 4). En tanto, en el cultivar imi-tolerante la actividad del ápice no fue afectada significativamente por imazapir + imazamox a ninguna de las dosis probadas durante el período de evaluación (Figura 4).

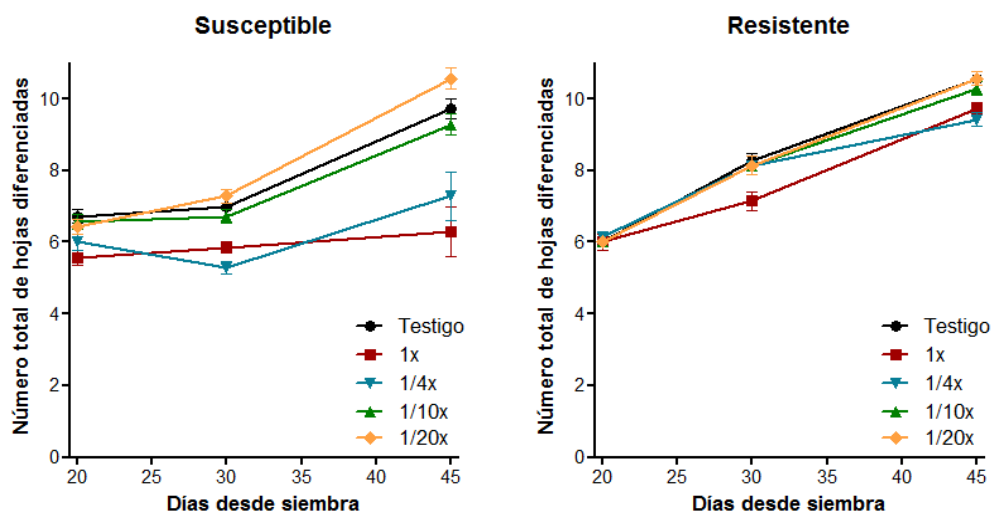


Figura 4: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre la actividad del ápice meristemático en el cultivar susceptible y resistente a 20, 30, y 45 días de la siembra. Los símbolos representan los valores medios y las barras verticales ± 1 error estándar.

• *Contenido relativo de clorofila*

La cantidad relativa de clorofila varió significativamente en la interacción entre los cultivares y tratamientos. Para el cultivar Escorpión, el tratamiento 1/4x comparado al testigo, mostró un 14 % de incremento en los valores medios de SPAD. Las plantas tratadas con la dosis 1x presentaron una caída en el contenido relativo de clorofila del 38 % respecto al testigo (Figura 5). Esto se condice con lo señalado por Shaner y O'Connor (1991), en donde indicaron que el efecto fitotóxico se ve inicialmente como clorosis de las zonas meristemáticas, siguiendo por las hojas con una suave clorosis foliar y necrosis.

El cultivar imi-tolerante no presentó cambios significativos en el contenido relativo de clorofila, estos resultados concuerdan con la insensibilidad del cultivar al herbicida. Esto es importante debido a que, incluso en cultivares comerciales resistentes a un determinado herbicida, la aplicación del producto puede provocar leves efectos fitotóxicos no deseados. Zabirole *et al.* (2010) encontraron reducciones del contenido de clorofila y de la tasa de fijación de CO₂ de materiales de soja RR tratados con dosis recomendadas de glifosato.

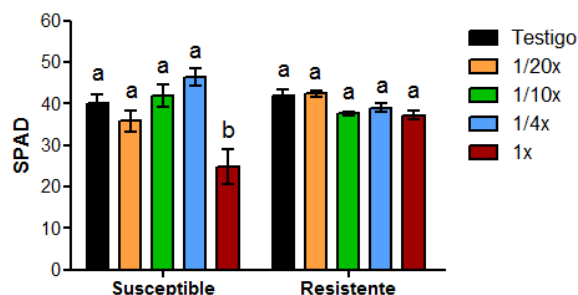


Figura 5: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre el contenido relativo de clorofila de la última hoja expandida del cultivar susceptible y resistente a 40 días de la siembra. Se

representan los valores medios ± 1 error estándar. Letras iguales indican diferencias no significativas ($p < 0,05$).

- **Determinación de contenido de proteínas totales**

El contenido de proteínas expresado en mg g^{-1} de peso fresco, presentó diferencias significativas en la interacción entre los cultivares y los tratamientos. Se encontró que el contenido de proteínas no muestra diferencias significativas entre tratamientos en el cultivar imi-tolerante. En cambio, el cultivar Escorpión tratado con la dosis 1x, mostró una reducción significativa del 68 % en proteínas totales con respecto a su testigo (Figura 6). De acuerdo a estos resultados, en el cultivar susceptible, el contenido de proteína en hojas fue sensible a la dosis de 1x de imazapir + imazamox. Esto se debería a la inhibición de la enzima acetolactato sintasa (ALS), enzima clave en la biosíntesis de aminoácidos de cadena ramificada, isoleucina, leucina y valina (Shaner y O'Connor, 1991).

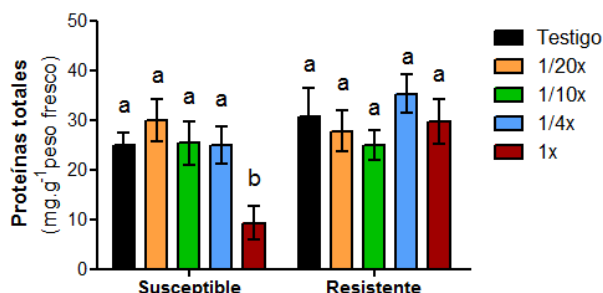


Figura 6: Efecto de los tratamientos de imazapir+imazamox sobre proteínas totales de la última hoja expandida del cultivar susceptible y resistente a 55 días de la siembra. Se representan los valores medios ± 1 error estándar. Letras iguales indican diferencias no significativas ($p < 0,05$).

El estudio de los efectos de imazapir e imazamox sobre el crecimiento de trigo susceptible y resistente a imidazolinonas permitió determinar la sensibilidad de diferentes parámetros fisiológicos para estimar el efecto de ambos herbicidas. En este sentido, se encontró que el incremento en la diferenciación de macollos, presumiblemente por la ruptura de la dominancia apical, es el parámetro más sensible al herbicida, encontrando efectos significativos a la mínima dosis probada (1/20x). Este efecto detectado durante la implantación debería ser evaluado en experimentos a campo para determinar las posibles implicancias en el rendimiento de la redistribución de recursos hacia la diferenciación de macollos.

Además, se concluye que cuando los residuos de imazapir + imazamox sean iguales o superiores al 25 % de la dosis recomendada, sería esperable la inhibición significativa del crecimiento de trigo no tolerante en detrimento de una exitosa implantación.

Bibliografía

- ALISTER, C. y KOGAN, M. 2004. Efficacy of imidazolinone herbicides to imidazolinone-resistant maize and their carryover effect on rotational crops. *Crop Protection* 24: 375-379.
- BALESDENT, J., C. CHENU y M. BALABANE. 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil & Tillage Research* 53: 215-230.
- BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- GALANTINI, J.A. 2002. Contenido y calidad de las fracciones orgánicas del suelo bajo rotaciones con trigo en la región semiárida pampeana. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 30: 125-146.
- ISTILART, C.M. 2005a. Relevamiento de malezas en girasol en el centro sur de la provincia de Buenos Aires. XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. ALAM, Cuba. Actas: 712-713.
- ISTILART, C.M. 2005b. Imidazolinone residuality on wheat, barley and oats in the south zone of Buenos Aires. Proceedings of the 7th International Wheat Conference. Mar del Plata. Actas: 112.
- LÓPEZ, M. L., J. R. PERALTA VIDEA, T. BENITEZ y J. L. GARDEA-TORRESDEY. 2005. Enhancement of lead uptake by alfalfa (*Medicago sativa*) using EDTA and a plant growth promoter. *Chemosphere* 61: 595-598.
- MILLER, J. Y AL-KHATIB, K. 2000. Development of herbicide resistant germplasm in sunflower, Proc 15th Int Sunflower Assoc Conf, France: 37-41.
- NEWHOUSE, K. E., B. SINGH y D. SHANER. 1991. Mutations to corn (*Zea mays*) conferring resistance to imidazolinone herbicides. *Theoretical Applied Genetic* 83: 65-70.
- PHILLIPS, I. 1975. Apical dominance. *Annual Review of Plant Physiology* 26: 341-367.
- SHANER, D. L. y S. L. O'CONNOR. 1991. The imidazolinone herbicides. Ed. CRC Press, Boca Raton. 289pp.
- SHANER, D. L. y B. K. SINGH. 1993. Phytotoxicity of acetohydroxyacid synthase inhibitors is not due to accumulation of 2-ketobutyrate and/or 2-aminobutyrate. *Plant Physiology* 103: 1221-1226.
- ZOBIOLE, L., R. SILVÉRIO DE OLIVEIRA, R. J. KREMER, J. CONSTANTIN, C. M. BONATO y A. SARAIVA MUNIZD. 2010. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97: 182-193.